Tome 61, nº 5. — Mars 1954

Ueber die Wirkung von Substanz F (Demecolcin) aus Colchicum autumnale auf den Regenerationsvorgang bei Planarien.

von

P. STEINMANN [1]

Nachdem Pernice (1889) als erster die zytologischen Veränderungen bei mit Colchicin vergifteten Hunden sehr genau beobachtet, abgebildet und beschrieben hatte, haben sich zahlreiche Untersuchungen mit den Wirkungen des Alkaloids auf die tierische und pflanzliche Zelle befasst.

Exakte Versuche über die Wirkungsweise des Colchicins an tierischen Geweben und Zellen wurden dann erst wieder in den dreissiger Jahren durch Dustin (1933, 1938) sowie Mitarb. durchgeführt. Auch an Gewebekulturen wurde das klassische Zeichen des durch Colchicin auslösbaren Stopps der Zellen in der Metaphase beobachtet (Bucher 1939; Brock u. Mitarb. 1939). Im *Tubifex*- und *Xenopus*-Test (Woker 1943, 1944. Lehmann 1945, 1947) konnte die entwicklungs- bzw. regenerationshemmende Wirkung des Präparates nachgewiesen werden. Colchicin bewirkte auch in anderen Tests, wie an Planarien, am Axolotl (G. Wilhelmi u. Steinmann 1950) und anderen Urodelen (Sentein 1947 *a* u. *b*) eine deutliche Wachstumsverzögerung und Verminderung der Regenerationsleistung.

Eine ganze Reihe von Publikationen aus der Klinik befasst sich mit der hemmenden Beeinflussung verschiedener tumoröser und leukaemischer Erkrankungen, doch gewinnt man den Eindruck,

[1] † am 6.10.53. Vorliegende Publikation wurde nach Protokollen und mündlichen Mitteilungen Steinmanns, sowie Literaturstudien von G. Wilhelmi zusammengestellt.

dass durch die mangelnde Spezifität der Wirkung, bzw. die allgemeine Toxizität von Colchicin die Möglichkeiten der therapeutischen Anwendung des Präparates stark eingeschränkt wird. Auch die anderen inzwischen entwickelten Antimitotica schienen keine genügende therapeutische Breite zu besitzen.

Es war daher angebracht, Colchicin-artige Verbindungen herzustellen und auf die Möglichkeit einer geringeren Toxizität bei gleich guter oder gar besserer Wirkung auf die Mitose hin zu untersuchen.

Die in dieser Richtung unternommenen chemischen Experimente von Lettré u. Mitarb. (1952 u. 1953) sowie weiteren Forschern führten zur Auffindung einiger interessanter Verbindungen, brachten jedoch keinen entscheidenden Fortschritt hinsichtlich der Entwicklung eines klinisch universal verwendbaren Präparates. Mehr Erfolg war dann den Arbeiten von Santavy u. Reichstein (1950) beschieden, denen es gelang, gut wirksame Nebenalkaloide aus Colchicum autumnale rein darzustellen und deren chemische Konstitution näher abzuklären (Santavy u. Mitarb. 1953. Uffer u. Mitarb. 1954). Eines dieser Alkaloide, Demecolcin (= Substanz F) erwies sich im Tierversuch und in der Gewebekultur von besonderem Interesse (Schär, Loustalot u. Gross, 1954). Die bisher vorliegenden klinischen Resultate mit Demecolcin (Bock u. Gross, 1953; Moeschlin u. Mitarb. 1953; Storti u. Gallinelli 1953) lassen allerdings noch keine eindeutigen Schlüsse hinsichtlich der Tumorwirksamkeit zu. Interessant ist jedoch die geringere Toxizität des Präparates gegenüber dem Colchicin. Wichtig ist auch die Beobachtung von Moeschlin u. Mitarb. (1953), wonach dem Präparat offenbar eine ziemlich spezifische Wirkung auf das myeloische System zukommt. Diese bedingt einerseits die als Nebenwirkungen gefürchtete Granulocytopenie, andererseits kann diese Erscheinung auch zu therapeutischen Konsequenzen wie der Möglichkeit einer spezifischen Beeinflussung der myeloischen Leukaemie führen, wobei bereits über günstig ansprechende Fälle berichtet worden ist.

Zur Objektivierung der wachstumshemmenden Wirkung ist es vielleicht nicht uninteressant, den Tierversuch heranzuziehen. Während es bei der Arbeit mit spontanen oder experimentell erzeugten Tumoren schwierig ist, weitgehend gleichartige Versuchsbedingungen zu erhalten, wie sie für einen exakten Vergleich wachstumshemmender Substanzen wünschenswert sind, ist dies bei

der Verwendung regenerierender Organismen schon eher möglich. Hiermit soll selbstverständlich nicht der Eindruck erweckt werden, Regenerations- und Tumorgewebe seien weitgehend gleichartig. Immerhin bestehen ja hinsichtlich der Wachstumsenergie gewisse Parallelen, wobei auch auf Übergangserscheinungen wie Regenerations-Geschwülste oder Hyperregenerationen (Narbenkeloide) hinzuweisen ist.

Für derartige Versuche können mit Vorteil Planarien und verschiedene Urodelen (Steinmann und G. Wilhelmi 1950), Kaulquappen (Lehmann 1945, 1947 sowie Mitarb.) und andere zoologische Objekte (Prada 1946) verwendet werden, wobei es sich darum handelt, Tiere mit besonders ausgeprägtem Regenerationsvermögen auszusuchen, wie dies bei den niederer entwickelten Organismen für gewöhnlich vorhanden ist.

Wenn man sich dazu entschliesst, die Wiederbildung des abgeschnittenen Kopfes als leicht zu beobachtendes Kriterium für die Regenerationsleistung zu verwenden, so erweisen sich die an sich gut regenerierenden vieläugigen Planarienarten *Polycelis nigra* und *Polycelis cornuta* u. a. doch als ungeeignet, besonders deswegen, weil die Augen einen Saum bis ins Gebiet des vorderen Rumpfes hin bilden. Dagegen sind hier die zweiäugigen Arten mit Vorteil verwendbar. Hierfür können z. B. *Planaria lugubris*, *Planaria alpina*, *Planaria vitta*, *Planaria torva* u. a. Arten verwendet werden, doch ist das Auffinden genügender Mengen nicht überall leicht. Überhaupt ist infolge der zunehmenden Verschmutzung unserer fliessenden und stehenden Gewässer der Bestand an Planarien insgesamt im Abnehmen begriffen. Ziemlich verbreitet hingegen sind noch die Arten *Dendrocoelum lacteum* und *Planaria gonocephala*.

Bei *Planaria gonocephala* kann, falls günstige Lebensbedingungen und besonders eine konstante Temperatur von 19-21° vorhanden sind, schon am 5. Tag nach dem Köpfen die Bildung eines kleinen Ersatzkopfes mit Augen beobachtet werden. Das Regenerat ist zuerst völlig pigmentfrei und hebt sich leicht vom Regeneranten ab. In früheren Untersuchungen des Autors mit G. Wilhelmi (1950), bei denen das Regenerat in seiner Länge und Fläche am Tage des Wiedererscheinens der Augen gemessen wurde, konnte festgestellt werden, dass bei *Planaria gonocephala* zu diesem Zeitpunkt bei unbehandelten und mit wachstumshemmenden Stoffen, wie Colchicin, Trypaflavin u.a. Farbstoffen behandelten Würmern eine

ziemlich konstante Regenerationsleistung vollbracht worden ist. In ähnlicher Weise hatten schon ABELOOS (1927) und WEIGAND (1930) bei anderen Planarienarten festgestellt, dass Kopf- und Augenregeneration ungefähr synchron verlaufen. Nach unseren Untersuchungen an *Planaria gonocephala* und *Dendrocoelum lacteum* können lediglich starke, schon leicht toxisch wirkende, d.h. zu Allgemeinschädigungen der Würmer führende Konzentrationen intensiv wachstumshemmender Stoffe eine Ausnahme machen, indem hier kleine, oft verkümmerte und seltsam deformierte Augen, bisweilen mit der Ausbildung von Synophthalmien entstehen können, bevor das Regenerat das übliche Ausmass erreicht hat. Tritt dieser Fall einmal ein, so ist dabei mit dem Vorliegen einer hemmend wirkenden Substanz zu rechnen. Dieses an sich nicht häufige Ereignis einer zeitlichen Diskrepanz der Augen- und Kopfregeneration kommt noch seltener vor, wenn man die Auswertung der Versuche zu einem früheren Termin vornimmt. Man könnte die Regenerationsleistung nun so beurteilen, dass für jedes Tier der Tag des Wiederscheinens der Augen bestimmt wird, wobei die so festgelegte Regenerationszeit behandelter Würmer mit derjenigen unbehandelter Kontrolltiere verglichen wird. Nach dem Obengesagten ist es jedoch — wie wir es in früheren Untersuchungen taten — besser, die Auswertung z. B. am 7. oder 10. Tag vorzunehmen, wobei festgestellt wird, wieviele der Würmer zu diesem Zeitpunkt noch augenlos sind.

Wichtig für die Auswahl der Planarien ist noch deren Grösse und Alter. Zu grosse und überalterte Tiere neigen zur Selbstteilung, indem sich in der Gegend des Pharynx ein Loch bildet. Zu kleine Tiere sind ebenfalls nicht geeignet, da dann zur Beobachtung des Wiedererscheinens der Augen eine stärkere Lupe verwendet werden müsste. Weiterhin ist die Akklimation der Würmer vom Milieu des Baches an das Leitungswasser des Laboratoriums langsam vorzunehmen, wobei vor allem auf eine vorsichtige Adaptation der Wassertemperatur zu achten ist. Die Tiere werden z. B. im Sommer schon auf dem Transport durch zu warmes Wasser oft schwer geschädigt, weswegen es sich empfiehlt, als Sammelgefäss eine Thermosflasche zu verwenden. Es sollte erst ca. 2—4 Wochen nach Einsetzen der Tiere und nach deren Gewöhnung an Temperaturen von ca. 20° mit dem Versuch begonnen werden. Ca. 2 mal wöchentlich werden unsere Würmer mit zerquetschten Insekten,

Tubifex, etwas geronnenem Blut etc. gefüttert. Da das Wasser aber leicht zu faulen beginnt, darf das Futter nur einige Stunden, längstens eine Nacht im Wasser verweilen. Eine unserer letzten Versuchsserien konnte nicht ausgewertet werden, da die Tiere nicht lange genug an die Lebensbedingungen des Laboratoriums angewöhnt worden waren und da sie offenbar vor Versuchsbeginn zu viel Nahrung aufgenommen hatten. Es sollte daher einige Tage vor Versuchsbeginn keine Fütterung mehr vorgenommen werden. Die Würmer speichern für längere Zeit genügend Nahrungsstoffe in ihrem Darmtractus.

Es zeigte sich jedoch, dass trotz Einhaltung der anderenorts geschilderten Versuchsbedingungen hinsichtlich Auswahl, Haltung und Vorbereitung der Tiere ein oft nicht ganz gleichartiges Verhalten der Würmer bezüglich ihrer Regenerationsleistung zu beobachten ist. Dies scheint vorwiegend auf gewisse jahreszeitliche Schwankungen bei der Regenerationsenergie zurückzuführen zu sein und ausserdem auf die Tatsache, dass das Tiermaterial trotz der Auswahl von Exemplaren von ähnlicher Körpergrösse nicht immer ganz homogen ist.

Daher stellen die bei der Auswertung der Versuche gewonnenen Resultate, hinsichtlich der Feststellung der minimalen toxischen und der maximalen regenerationshemmenden Konzentration keine streng absoluten Werte dar. Diese können nur mit den Resultaten bei den gleichzeitig untersuchten Kontrolltieren und denjenigen bei den mit anderen Präparaten zur gleichen Zeit behandelten Würmern direkt verglichen werden.

Je nach der aktuellen Widerstandsfähigkeit der betreffenden Planarien können sich die wirksamen Verdünnungen etwas verschieben. Wesentlich ist jedoch bei der Beurteilung der Resultate die Feststellung, ob ein Präparat überhaupt in irgend einer Einzelkonzentration oder gar einem gewissen Konzentrationsbereich wachstumshemmend wirkt. Trotzdem sind auch die Wirkungen mehrerer, nicht gleichzeitig untersuchter Präparate ungefähr miteinander vergleichbar, wie aus früheren Untersuchungen von verschiedenen Antimitoticis, Antihistaminen, Vitalfarbstoffen u. a. Präparaten hervorgeht (G. Wilhelmi u. Steinmann 1950, Steinmann u. G. Wilhelmi 1950, G. Wilhelmi 1953 *a* u. b.).

In den hier speziell zur Darstellung gelangenden Versuchen wurden die während ca. 3 Monaten ans Leitungswasser gewöhnten

Planarien direkt nach der Decapitation für 48 Stunden verschiedenen Verdünnungen von Demecolcin [1] anvertraut. Das Präparat wurde zunächst in Aqua dest. gelöst und zur Hälfte mit Leitungswasser versetzt. Obwohl Planarien in destilliertem Wasser längere Zeit überleben, gewannen wir den Eindruck, dass das Aqua dest. die Toxizität der geprüften Substanzen etwas verstärkte. Wir setzten daher andere Lösungen in Leitungswasser an, wodurch die Lebensbedingungen der Planarien etwas physiologischer gestaltet wurden. Ein Tastversuch mit je 2 Tieren pro Konzentration diente zur Ermittlung der toxischen Grenzkonzentration. Für die Hauptversuche wurden dann 13 Verdünnungen von Demecolcin und zwar von 1: 5000 bis 1: 1.000.000 hergestellt. In Ergänzung und zur Überprüfung früherer Versuche wurden 4 weitere Konzentrationen von Colchicin verwendet, womit ein Vergleich mit Demecolcin ermöglicht werden sollte. Zwei Kontrollgruppen von Planarien wurden mit Leitungswasser angesetzt. Diesen 17 Verdünnungen wurden je 20 decapitierte Exemplare von *Planaria gonocephala* zugesetzt. Die Wassertemperatur betrug wie bei den beiden Kontrollgruppen zu ebenfalls 20 Tieren 19—21°. Die Kontrolle der Kopf-, bzw. Augenregeneration wurde bei diesen 380 Tieren jeweils am 5., 7., 10. und 14. Tag vorgenommen. Hierbei erhielten wir die in Tabelle 1 und 2 dargestellten Befunde.

Aus Tabelle 1 geht hervor, dass Demecolcin in Konzentrationen von 1: 5.000 nach 48-stündiger Einwirkungsdauer für die Planarien toxisch wirkt. Wählt man den 7. Tag nach der Decapitation, d. h. den 5. Tag nach Beendigung der Behandlung als Zeitpunkt für die Bewertung der Versuche, so zeigt es sich, dass das Präparat in Konzentrationen von 1: 10.000 bis 1: 100.000 voll wirksam ist. Mit der Bezeichnung „voll wirksam“ ist gemeint, dass die Regeneration des Kopfes und der Augen praktisch ganz unterdrückt wird. Möglicherweise erstreckt sich der Wirkungsbereich auch noch auf Verdünnungen bis 1: 200.000, wo am 7. Tag ebenfalls noch keine Augenregeneration zu beobachten war. Hingegen zeigte sich in einer anderen Versuchsreihe bei der Verdünnung von 1: 150.000 eine kleine Schwankung, indem hier ein Tier (von 20) beide Augen und 2 weitere Würmer dieser Gruppe je ein Auge und die Köpfe

[1] Demecolcin = Substanz F oder Präparat 12 669 A, wurde von der Ciba A.G. Basel für diese Versuche freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

bis zu einem entsprechenden Ausmass wieder gebildet hatten. Überhaupt wurden bei verschiedenen Versuchsserien mit Demecolcin wie bei den Colchicin-Versuchen vereinzelte Cyclopen beobachtet.

Tabelle 2 zeigt die Resultate von Versuchen, die zur selben Zeit vergleichsweise mit Colchicin angestellt wurden. Danach wirkt auch dieses Alkaloid in Verdünnungen von 1: 5.000 toxisch, wobei die Mehrzahl der Tiere ad exitum kommt. Der hinsichtlich der Regenerationshemmung voll wirksame Konzentrationsbereich von Colchicin erstreckt sich mindestens von 1: 10.000 bis 1: 20.000, bzw. 1: 25.000, wenn wir hier zur Ergänzung frühere Versuche miteinbeziehen (G. Wilhelmi und Steinmann, 1950).

Aus unseren Untersuchungen geht somit hervor, dass sich Planarien zur Prüfung der regenerationshemmenden Wirkung verschiedener Mitosegifte und anderer Präparate gut eignen. Es sei erwähnt, dass nach Untersuchungen mit G. Wilhelmi (1950, 1953 *a* u. *b*) die meisten der an Planarien gewonnenen Resultate sich auch im Test am Axolotl zur Darstellung bringen lassen. Zweifellos ist es möglich, die Wirkung von Mitosegiften an Planarien durch Verlängerung der Expositionszeiten von 48 Stunden auf mehrere Tage zu intensivieren. In früheren Untersuchungen konnte festgestellt werden, dass durch Anwendung einer kurzen Einwirkungsdauer der wachstumshemmende Effekt von an sich wirksamen, aber weniger gut im Organismus haftenden Substanzen nicht voll erfasst werden kann. Umgekehrt führen längere Expositionszeiten leichter zu Schädigungen des ganzen Tieres, während die hier gewählte 48-stündige Behandlung die selektive Wirkung von Substanzen auf das Regenerationsgeschehen besser zur Darstellung zu bringen vermag. Die regenerationshemmende Wirkung von Colchicin und Demecolcin ist in einem ziemlich weiten Konzentrationsbereich vorhanden, während schwächer wirkende Präparate wie z. B. manche Antihistaminica (G. Wilhelmi, 1953 *a* u. *b*) eine wesentlich geringere therapeutische Breite besitzen. Die toxische Grenzkonzentration ist für die beiden hier untersuchten Alkaloide aus Colchicum autumnale ungefähr die gleiche; sie liegt etwa bei 1: 10.000. Dieser Befund hat nach den Untersuchungen von Schär, Loustalot und Gross (1954) keine allgemeine Gültigkeit bei den Warmblütern. An der Maus und Ratte ist nach intravenöser Applikation Demecolcin 30—40 mal weniger toxisch als

Colchicin; demgegenüber weisen beide Alkaloide nach intraperitonealer Verabreichung beim Hamster und Meerschweinchen gleiche Werte für die akute Toxizität auf, wobei der Hamster die resistentere und das Meerschweinchen die empfindlichere der untersuchten Tierarten ist.

Nach unseren Beobachtungen ist jedoch die regenerationshemmende Wirkung von Demecolcin bei *Planaria gonocephala* ungefähr 4—8 mal stärker als diejenige von Colchicin. Während bei weniger different wirkenden Präparaten ein wachstumshemmender Effekt meist nur bei Verwendung starker, mehr oder weniger toxischer Konzentrationen erzielt werden kann, wobei Ruhezellen und die an der Regeneration teilnehmenden Gewebselemente fast in gleicher Weise geschädigt werden, zeigt sich der spezifische Effekt von Präparaten auf regenerierende Gewebe an deren Wirkungsbreite, d. h. in einem hemmend wirkenden, doch den Regeneranten nicht schädigenden Verdünnungsbereich.

Wenn wir uns fragen, was unsere Befunde hinsichtlich der Art der Beeinflussung des Regenerationsvorganges zu bedeuten haben, so muss zunächst vermutet werden, dass es sich entsprechend der bekannten Mitosegiftwirkung von Colchicin und verwandter Präparate auch hier um einen antimitotischen Effekt handelt.

Der Regenerationsprozess ist gerade bei Planarien sehr genau studiert und die betreffenden Beobachtungen in zahlreichen Publikationen niedergelegt worden (Steinmann, 1908, 1916, 1925; Steinmann u. Bresslau, 1913; J. Wilhelmi, 1909 *a-c*; Lang, 1912; Abeloos, 1927; Curtis u. Schulze, 1932, und zahlreiche andere Autoren).

Danach ist es zweifellos so, dass bei dieser Tierart die Neubildung eines verloren gegangenen Körperteils sehr rasch und mit grosser Energie betrieben wird, wobei es sich offensichtlich um ein sehr planmässiges und zweckmässiges Vorgehen handelt. Die kausale Betrachtungsweise führt hier, wie überhaupt in der Biologie, nicht zum Ausgangspunkt des konsekutiven Geschehens, somit nicht zum erschöpfenden Verständnis eines biologischen Vorganges. Wenn man sich die Zweckmässigkeit der Teilvorgänge bei der Regeneration vergegenwärtigt, so erkennt man gerade hier den Wert der teleologischen Betrachtungsweise.

Eine Anzahl von Forschern glaubte, in den Geweben der Planarien ruhende Zellen, die sie als Residuen aus der Embryonalzeit

ansahen, gefunden zu haben. Man schrieb diesen „Bildungszellen", auch „Reservezellen" oder „Neoblasten" genannt, besondere Fähigkeiten beim Regenerationsprozess zu. Da diese Zellen offenbar beweglich waren und auf das entstehende Regenerat hinwanderten, erhielten sie auch die Bezeichnung „Wanderzellen". Diesen Neoblasten sollte nun einmal die Aufgabe zukommen, je nach Bedarf Gonaden oder Regenerationsgewebe zu bilden. J. WILHELMI (1909 *a-c*,) P. LANG (1912) und später noch eine Reihe anderer Forscher vertraten jedoch, wie der Autor (1916, 1925), die Ansicht, die omnipotenten Bildungs- oder Wanderzellen entstünden durch Rückdifferenzierung der verschiedensten volldifferenzierten Zellen, wie solchen der Muskulatur, der Dotterstöcke und vor allem aus allen möglichen Drüsen wie Ovarien und Hoden, ferner den Geschlechtsgängen, dem Darm usw. Dieser bei Bedarf in Gang gesetzte Umbildungsprozess rekrutiert das erforderliche Zellmaterial aus den gerade entbehrlichen Gewebeteilen der Planarien. Die Ansichten über den Vorgang der Dedifferenzierung gehen auseinander. Sicher kann diese auch ohne Zellteilung vor sich gehen (STEINMANN, 1925 u. a.), nach P. LANG (1912) und WEIGAND (1930) geschieht jedoch die Umbildung in den meisten Fällen bei mitotischer Teilung der betreffenden Zellen. Andererseits findet sich auch an der Grenzfläche des Regeneranten gegen den sich neu bildenden Körperteil oft eine Anhäufung von Mitosen, während diese im Regenerat selbst seltener zu beobachten sind. CURTIS u. SCHULZE (1932) beobachteten an den Bildungszellen, die sie jedoch für persistierende embryonale Zellen hielten, während der Regeneration ebenfalls häufige mitotische Teilungen.

Aus diesen Beobachtungen geht eindeutig hervor, dass es sich bei der Regeneration an Planarien im Wesentlichen nicht um eine Verlagerung fertigen Zellmaterials handelt, sondern dass der Vorgang des Wachstums durch Zellvermehrung mittels mitotischer Teilung dabei eine beträchtliche Rolle spielt. Demnach kann man sich die Hauptwirkung der Colchicum-Alkaloide auf den Regenerationsvorgang sehr wohl als antimitotischen Effekt erklären.

Unsere Versuche geben keine Auskunft darüber, ob Demecolcin in selektiver Weise auf ein bestimmtes Zellsystem einwirkt. Mit Sicherheit kann nur ausgesagt werden, dass Zellen, die einen wesentlichen Anteil am Regenerationsgeschehen haben, hemmend beeinflusst werden.

Tabelle 1.

Regenerationshemmende Wirkung an Planaria gonocephala.

Demecolcin (Präp. 12 669 A, Ciba) Verdünnungen mit Leitungswasser Expositionszeit: 48 Std. Wassertemperatur 19-21°. Beobachtung der Kopf- u. Augenregeneration am 5.—14. Tag. 20 Tiere pro Konz.

Konzentration	Zahl der augenlosen Tiere in %			
	5. Tag	7. Tag	10. Tag	14. Tag
1 : 5.000	100 (—)	10 (90 Ex)	10 (90 Ex)	10 (90 Ex)
1 : 10.000	100 (—)	100 (—)	100 (—)	100* (—)
1 : 15.000	100 (—)	100 (—)	100 (—)	100 (—)
1 : 20.000	100 (—)	100 (—)	100 (—)	100 (—)
1 : 30.000	100 (—)	100 (—)	100 (—)	85+5 C (—)
1 : 50.000	100 (—)	100 (—)	100* (—)	90*+10 C (—)
1 : 75.000	100 (—)	100 (—)	100 (—)	90 (—)
1 : 100.000	100 (—)	100 (—)	80* (—)	55*+10 C (—)
1 : 150.000	100 (—)	85+10 C (—)	15 (—)	0 (—)
1 : 200.000	100 (—)	100 (—)	15+5 C (—)	0 (—)
1 : 300.000	100 (—)	60 (—)	0 (—)	0 (—)
1 : 500.000	80 (—)	0+20 C (—)	0+5 C (—)	0 (—)
1 : 1 Mill.	85 (—)	20+5 C (—)	0 (—)	0 (—)
Kontrollgruppe I	10 (—)	0 (—)	0 (—)	0 (—)
Kontrollgruppe II	25 (—)	0 (—)	0 (—)	0 (—)

Anmerkung: Unter den Prozentzahlen der augenlosen Tiere steht in Klammern die Anzahl der ad exitum gekommenen Tiere (ebenfalls in %). Die Zalh der Planarien, die nur ein Auge regeneriert haben, steht neben den Angaben über die noch augenlosen Tiere und ist mit einem C bezeichnet (C = Cyclop).

* bedeutet, dass sich bei den als negativ gerechneten Tieren einzelne befinden, die zwar die Augen wieder gebildet haben, bei denen aber die Kopfgrösse deutlich zurück geblieben ist.

Im Selbstversuch konnte festgestellt werden, dass nach über 3-wöchiger Zufuhr von täglich 4—5 mg Demecolcin per os die Zahl der Leukocyten nicht verändert wurde. Der Gesamt-Blutstatus wurde nach den Untersuchungen von Dr. med. S. Brändli, Aarau unter der Einwirkung des Präparates nicht wesentlich beeinflusst. Insbesondere stellten sich keine Anzeichen einer Granulocytopenie ein.

Genauere Untersuchungen über die Wirkungsweise von Demecolcin auf die Zelle wurden an Planarien nicht vorgenommen, da dieses Versuchsobjekt hierfür weniger geeignet ist. Hingegen sind für diesen Zweck grosse Zellen mit leicht zu beobachtenden Teilungsfiguren, wie z. B. die Leydig'schen Zellen beim Axolotl u. a. zu verwenden.

Tabelle 2.

Regenerationshemmende Wirkung an Planaria gonocephala.

Präparat: *Colchicinum purissimum* « Merck ». Verdünnungen mit Leitungswasser. Expositionszeit 48 Std. Wassertemperatur 19-21°. Beobachtung der Kopf- und Augenregeneration am 5.—14. Tag. 20 Tiere pro Konzentration.

Konzentration	Zahl der augenlosen Tiere in %			
	5. Tag	7. Tag	10. Tag	14. Tag
1 : 5.000	100 (—)	95 (5 Ex)	80 (20 Ex)	20 (80 Ex)
1 : 10.000	100 (—)	100 (—)	100 (—)	100* (—)
1 : 20.000	100 (—)	100 (—)	90 (—)	55 (—)
1 : 30.000	100 (—)	70+5 C (—)	50+5 C (—)	0 (—)
Kontrollgruppe I	10 (—)	0 (—)	0 (—)	0 (—)
Kontrollgruppe II	25 (—)	0 (—)	0 (—)	0 (—)
Früher gewonnenes Resultat (W) 1 : 25.000	100 (—)	100 (—)	60 (—)	40 (—)

Anmerkung: siehe Tabelle 1. W = G. Wilhelmi u. Steinmann (1950).

ZUSAMMENFASSUNG

Nach einigen histogenetischen Betrachtungen zum Regenerationsprozess bei Planarien und nach der Beschreibung der Versuchstechnik zur Prüfung der regenerationshemmenden Wirkung an *Planaria gonocephala* werden die mit den Alkaloiden Colchicin und Demecolcin aus *Colchicum autumnale* bei diesem Test gewonnenen Resultate mitgeteilt. Während die Toxizität der beiden Präparate bei dieser Planarienart ungefähr gleich ist, erweist sich Demecolcin hinsichtlich des regenerationshemmenden Effekts als mindestens 4—8 mal wirksamer als Colchicin.

LITERATURVERZEICHNIS

ABELOOS. 1927. *La vitesse de la régénération de la tête chez Plan. gonocephala Dugès. Influence de la taille des individus opérés.* C. rend. Soc. Biol. 46: 923.

BOCK, H. E. u. R. GROSS. 1953. *Colchicinwirkungen und Granulocytopoese.* Klin. Wschr. 31: 816.

BROCK, N., H. DRUCKREY u. H. HERKEN. 1939. *Über Kerngifte und Cytoplasmagifte.* Arch. exper. Path. 193: 679.

BUCHER, O. 1939. *Über den Einfluss von Colchicin und Trypaflavin auf den Wachstumsrhythmus und die Zellteilung von Fibroblastenkulturen.* Z. f. Zellf. u. mikroskop. Anat. 29: 283.

— 1940. *Zur Zelltoxikologie einiger Pharmaka.* Schweiz. med. Wsch. 70: 910.

CURTIS u. SCHULZE. 1932. *The Contrasting Powers of Regeneration in Planaria and Procotyla.* J. Morphol. 26: 477.

DUSTIN, A. P. 1933. *Le phénomène de l'excrétion sphérulaire dans l'intestin grêle de la Souris au cours des premiers jours de la vie extra-utérine.* Arch. Zool. exp. 75: 353.

— 1938. *A propos des applications des poisons caryoclasiques à l'étude des problèmes de pathologie expérimentale, de cancérologie et d'endocrinologie.* Arch. exp. Zellforsch. 22: 395.

LANG, P. 1912. *Über Regeneration bei Planarien.* Arch. mikr. Anat. 79: 361.

LEHMANN, F. E. 1945. *Zur entwicklungsphysiologischen Wirkungsanalyse von antimitotischen Stoffen.* Experientia. 1: 232.

— 1947. *Chemische Beeinflussung der Zellteilung.* Experientia. 3: 223.

LETTRÉ, H. u. E. HARTWIG. 1952. *Vergleich ringgeschlossener und ringoffener Verbindungen vom Colchicintyp auf ihre antimitotische Wirkung.* Hoppe-Seilers Z. 291: 164.

LETTRÉ, H. u. R. LETTRÉ. 1953. *Zum Wirkungsunterschied von Desacetyl-Colchicin und Isodesacetyl-Colchicin.* Naturwiss. 40: 108.

MOESCHLIN, S., H. MEYER u. A. LICHTMAN. 1953. *Ein neues Colchicum-Nebenalkaloid (Demecolcin Ciba) als Cytostaticum myeloischer Leukaemien.* Schweiz. med. Wschr. 83: 990.

PERNICE, B. 1889. *Sulla cariocinesi delle cellule epiteliali ed endoteliali della mucosa nello stomaco e nell'intestino in casi di enterite gastrica sperimentale in seguito ad avvelenamento per la colchicina.* Sicilia Med. 1: 265.

PRADA, N. 1946. *Effect of Benzopyrene on Regeneration in Amphibia.* Tumori. 32: 151.

SANTAVY, F. u. T. REICHSTEIN. 1950. *Isolierung neuer Stoffe aus dem Samen der Herbstzeitlose Colchicum autumnale L.* Helv. chim. Acta. 33: 1606.

SANTAVY, F., R. WINKLER u. T. REICHSTEIN. 1953. *Zur Konstitution von Demecolcin (Substanz F) aus Colchicum autumnale L.* Helv. chim. Acta. 36: 1319.

SCHÄR, B., P. LOUSTALOT u. F. GROSS. 1954. *Demecolcin (Subst. F), ein neues, aus Colchicum autumnale isoliertes Alkaloid mit starker antimitotischer Wirkung.* Klin. Wschr. 32: 49.

SENTEIN, P. 1947 *a. Sur l'action comparée de la colchicine et du chloral sur les cellules épithéliales et nerveuses des larves d'amphibiens.* C. rend. Assoc. Anatom.

— 1947 *b. Action comparée de la colchicine et du chloral sur le développement des œufs d'amphibiens anoures.* C. rend. Soc. Biol. 141: 352.

STEINMANN, P. 1908. *La régénération chez les planaires.* Arch. Sc. phys. Genève. 26: 552.

— 1916. *Autotomie, ungeschlechtliche Fortpflanzung durch Teilung, Transplantation und Regeneration der Tricladida.* Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreichs, Verl. Winter, Leipzig. S. 3249.

— 1925. *Das Verhalten der Zellen und Gewebe im regenerierenden Tricladenkörper.* Verh. Naturf. Ges. Basel. 36: 133.

STEINMANN, P. u. E. BRESSLAU. 1913. *Die Strudelwürmer.* Monographien einheimischer Tiere, 5, Verlag Klinkhardt, Leipzig.

STEINMANN, P. u. G. WILHELMI. 1950. *Einfluss basischer Vitalfarbstoffe auf die Regeneration bei Planarien und Axolotl.* Roux' Arch. 144: 329.

STORTI, E. e R. GALLINELLI. 1953. *Osservazioni cliniche e sperimentali con la sostanza F, estratta dal colchicum autumnale.* Communic. 1º Riun. Soc. Ital. Chemioter., Milano.

Uffer, A., O. Schindler, F. Santavy u. T. Reichstein. 1954. *Demecolcin.* Helv. chim. Acta. 37: Nr. 1.

Weigand, K. 1930. *Regeneration bei Planarien und Clavellina unter dem Einfluss von Radiumstrahlen.* Z. wiss. Zool. 136: 255.

Wilhelmi, G. 1953 *a. Über den Einfluss antiphlogistisch wirkender Pharmaka auf den Regenerationsvorgang bei Planaria gonocephala und Amblystoma mexicanum.* Arch. exper. Path. 218: 101.

— 1953 *b. Action des antiphlogistiques sur la régénération et sur la croissance de différentes tumeurs chez l'animal.* Communic. 1° Riun. Soc. Ital. Chemioter. Milano.

Wilhelmi, G. u. P. Steinmann. 1950. *Regenerationshemmende Wirkung von Mitosegiften an Planarien und Axolotl.* Roux' Archiv. 144: 265.

Wilhelmi, J. 1909 *a. Tricladen.* 32. Monographie der zoologischen Station Neapel. R. Friedländer u. Sohn, Berlin.

— 1909 *b. Zur Biologie der Seetricladen.* Habilitationsschrift Universität Zürich, Verlag Engelmann, Leipzig.

— 1909 *c. Zur Regeneration und Polypharyngie der Tricladen.* Zool. Anzeiger. 34: 673.

Woker, H. 1943. *Phasenspezifischer Effekt von Colchicin bei der Reifungsteilung von Tubifex.* Rev. Suisse Zool. 50: 237.

— 1944. *Colchicin-Wirkung auf Mitose und Entwicklungsfähigkeit* von Tubifex-Eiern. Rev. Suisse Zool. 51: 109.